

Medición del Contenido de Oxígeno en la Sangre con un Electrodo PO_2

JOHN W. SEVERINGHAUS, M.D. (*)

(En misión ante el Instituto Boliviano de Biología de la Altura)

El método descrito fue modificado especialmente para ser usado en conexión con una investigación del flujo sanguíneo cerebral y del metabolismo anaeróbico en La Paz, en el Inst. Boliviano de Biología de la Altura durante Mayo y Junio de 1972. El contenido de oxígeno de la sangre puede ser medido con un electrodo PO_2 , si la sangre está diluida con exactitud, anaeróticamente con una solución de agua que impulsa el oxígeno de la hemoglobina hacia la solución. Anteriormente se usaba el terricianuro, pero se descubrió que el monóxido de carbono tiene muchas más ventajas: 1) la solución de CO en agua es permanentemente estable, y 2) no se forman depósitos pegajosos de proteína. El método se basa en la descripción de Klingenstein y al. pero ha sido modificado para evitar la necesidad de construir una llave de 5 partes y otros implementos de vidrio especiales. Todos los componentes se encuentran fácilmente en el comercio o son fabricados sin complicaciones. Cada medición utiliza 40 microlitros de sangre diluida a 2.0 ml en agua destilada saturada de CO, y requiere de unos 5 minutos para lecturas duplicadas.

METODO: Los componentes consisten de lo siguiente: 1) un electrodo PO_2 standard en su recipiente de 37C con termostato, como pa-

ra la medición del PO_2 sanguíneo, con su amplificador y su instrumento de lectura (para aumentar la exactitud en la lectura, hemos construido un instrumento especial que lee una escala completa de 0-10 vol%, con un switch de intercambio para la escala de 10-20 y 20-30 vol%). 2) Una jeringa Hamilton herméticamente cerrada de 50 microlitros con un brazo lateral justamente sobre los 50 microlitros, que le permite llenarse desde la punta de la aguja hasta el brazo lateral. Esta jeringa está montada en un marco con un mecanismo de parada para reparto reproducible de 40 microlitros. La ilustración en la fig. 1 fue diseñada por O. Siggaard Andersen. Algo parecido pero más sencillo se conoce con el nombre de adaptador Cheney. 3) Una jeringa de cristal de 2 ml. con una varilla de bronce doblada y cementada en su lugar con soldadura pura para detener el émbolo a 2.0 ml., tal como se muestra en la fig. 2. 4) Un aparato para preparar agua saturada con CO libre de oxígeno y provisión para generar CO y para llenar y vaciar la jeringa de 2 ml., como lo indica la ilustración esquemática de la fig. 3. El agua destilada de la botella N° 1 es bombeada con N_2 continuamente para expulsar el oxígeno; la botella N° 2 contiene un volumen de gas fijo de CO. Cuando se extrae el agua saturada con CO hacia la jeringa de 2 ml., fluye más de la botella N° 1 para ocupar su lugar. Una mezcladora magnética asegura que el agua que penetra esté expuesta al CO. La botella N° 3 contiene H_2SO_4 (20-40 ml.) al que se le añade 1-2 ml. de ácido fórmico, en el momento de llenar la botella N°

(*) Profesor de Anestesia.— Instituto de Investigación Cardiovascular— Universidad de California.— San Francisco - California.

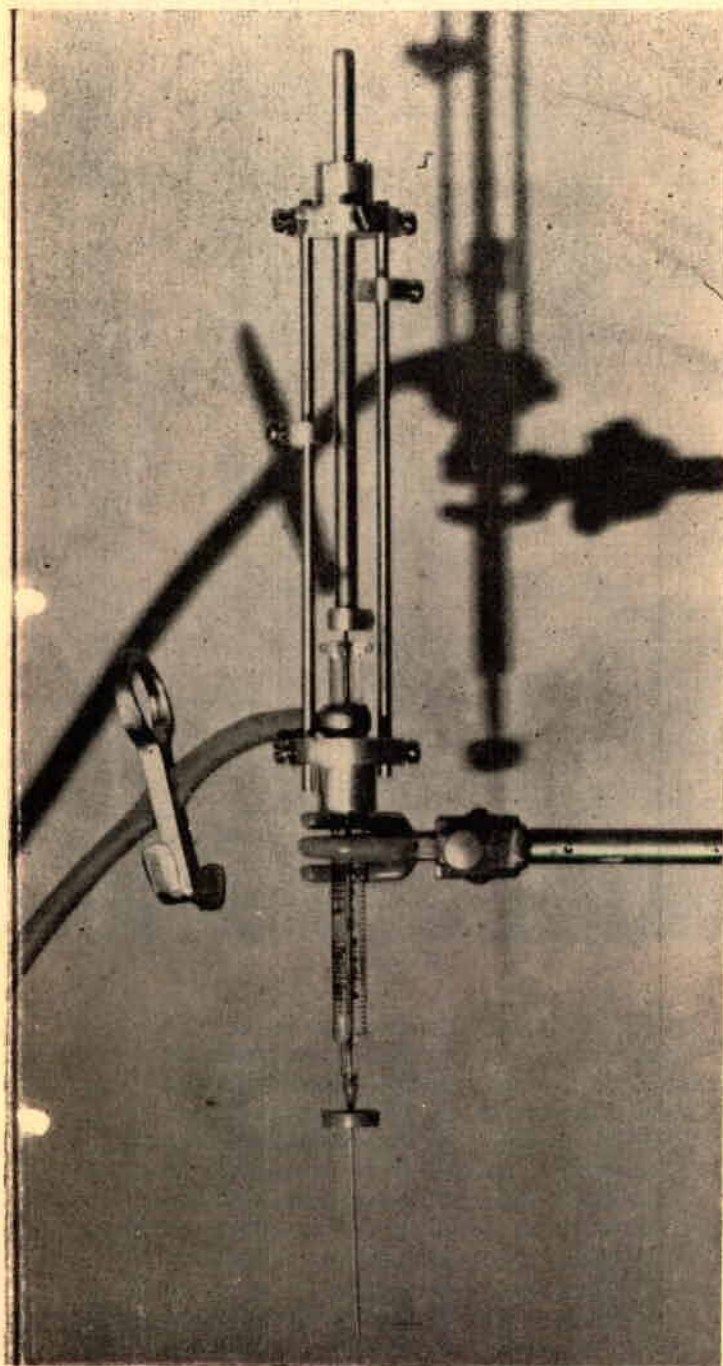
2 con CO. Esto es necesario solamente, más o menos cada 3 meses de uso continuo, ya que cada litro de agua utilizada absorbe 25 ml. de CO, y cada medición, incluyendo el lavado de la jeringa, utiliza de 6 a 8 ml.

El procedimiento para llenar el saturador de CO de la botella N° 2 con CO libre de oxí-

geno, es el siguiente: Se llena la botella N° 2 completamente, con agua equilibrada con N₂ y, se bombea N₂ a través de ella desde la botella N° 1, permitiendo que el gas fluya por la entrada del CO. Cuando las muestras están libres de O₂, se cierra la salida del CO. Se añade ácido fórmico, 1 ml., y se espera hasta que cese el bombeo, vaciando el CO por la ventana hasta que la botella N° 3 quede limpia de O₂. Se añade 2 ml más de ácido fórmico, se conectan las dos llaves para permitir la entrada del CO a la botella N° 2, devolviendo el agua a la botella N° 1. Se detiene el flujo del CO a la botella N° 2 cuando el nivel del agua está a 2 cm. encima del vértice de salida, o a unos 6 cm. de profundidad. Para volver a llenar la botella N° 1, se cierra la válvula entre N° 1 y N° 2, se llena la botella y se bombea vigorosamente N₂ por un periodo de más o menos media hora antes de volver a abrir la válvula y proceder a la utilización.

Todos los conductos indicados son de 1/4" de cobre, para prevenir cualquier difusión interna de O₂. El plástico no es aconsejable. El vidrio es difícil de ligar a los conectores Luer. La llave especial y el sistema de vaciado, amplificados en la fig. 3b, sirven para reducir el espacio muerto y para remover fácilmente las burbujas de aire, encaminando el agua de entrada concéntricamente para abajo, a través de una aguja hacia la entrada de la jeringa de 2 ml., permitiendo que la solución sobrante y las burbujas rebalsen alrededor de la aguja y fuera del brazo lateral. Puede emplearse una llave de 3 vías y hembra doble, tal como se indica en la fig. 3^a, si no se consiguen fácilmente las partes indicadas. La hembra doble sirve para otros fines y es necesaria. Cuando la sangre es inyectada de la jeringa Hamilton a la jeringa llena de 2 ml, insertando la punta de la aguja de Hamilton en la punta abierta de la jeringa de 2ml., desplaza un poco de agua y cuando es extraído, quedará una burbuja de aire en la punta de la jeringa. Dejando la hembra doble en la jeringa de 2 ml. hasta después de extraer la punta de la aguja de la jeringa de Hamilton, y sacando luego el adaptador hembra doble, se obtiene una jeringa completa llena. Se la puede mezclar tapando la abertura con un dedo y sacudiéndola vigorosamente (al igual que un termómetro).

Calibración: Deberá determinarse el cociente exacto R, el cual es aproximadamente de $2.0/0.04 = 50$, para la combinación de jeringas Hamilton y 2 ml. respectivamente. Si se



(Fig. 1)

dispone de un titrador electrométrico clorhídrico, se puede realizar fácilmente estas calibraciones comparando concentraciones clorhídricas resultantes de diluir 5 M Na Cl o K Cl (en vez de sangre) con agua (saturada de CO), ambas utilizando el método de las jeringas Hamilton y 2 ml., y utilizando una pipeta standard de 2.00 ml y una mufla volumétrica de 100 ml. Dispóngase para titrar durante por lo menos 90 segundos y vaciar a intervalos agua saturada de CO. Después de sustraer el tiempo de intervalo al tiempo de titración, tenemos que $R = 50 (T_{50}/T_u)$, donde T_{50} es el tiempo de titración de la dilución "50 fold" conocida exactamente y T_u el del mecanismo de la jeringa.

Para permitir la calibración con aire, deberá medirse el factor aire/agua del electrodo Po_2 . Colóquese un tubo de ensayo de 25-30 ml. en el baño de agua de 37C, conteniendo agua destilada y una aguja a través de la cual se bombea aire suavemente durante una hora o más. Por medio de la jeringa transfiera alícuotas al electrodo Po_2 , después de varios enjuagues de los espacios muertos de la jeringa con el agua equilibrada. El cociente de aire a agua debe ser menor de 1.03 con electrodos microcátodicos (por ej.: radiometer) cubiertos con 25 micras de polipropileno o polietileno. Este cociente es F.

El contenido de $O_2 = Po_2 \times (0.314 \times R \times F)$ ml O_2 por litro de sangre. El instrumento puede ser graduado para leer directamente el contenido de O_2 si la calibración de aire está graduada para leer = $R \times F \times (Pb - 47) \times (.20946 \times .0314)$, donde Pb es la presión barométrica. En La Paz, esto resulta en una graduación de la calibración de unos 160 mm Hg para Aire.

Comentarios sobre los métodos y técnicas:

- 1) Se coloca la jeringa Hamilton verticalmente, con la punta de la aguja hacia abajo, con la succión conectada al brazo lateral. Deberá mezclarse enérgicamente la muestra de sangre, sacudiéndola como si se tratara de un termómetro (la rotación no mezcla los dos extremos entre si). Se introduce la aguja en la mezcla y se jala el tapón de absorción de la jeringa Hamilton, hasta pasar sobre el brazo lateral, permitiendo que la jeringa se llene con la succión, y luego se empuja hacia abajo, hasta



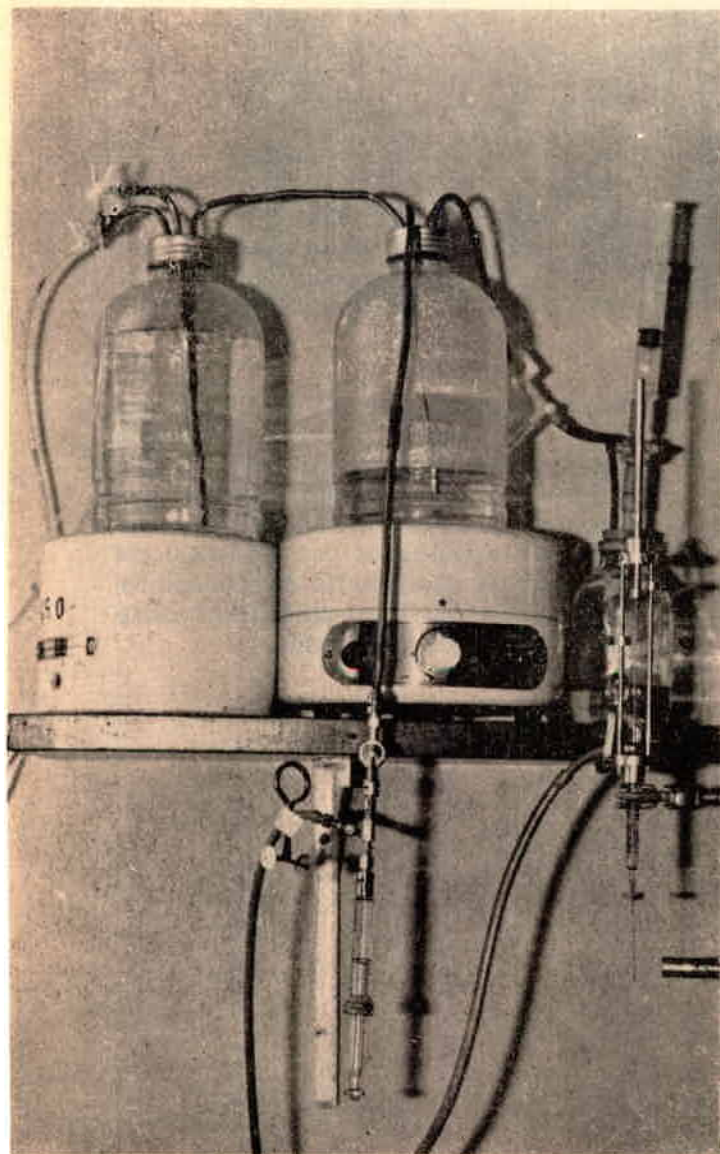
(Fig. 2)

la marca de los 40 microlitros. Se saca la jeringa de muestra, y se seca la aguja. Se enjuaga y se llena varias veces la jeringa con agua saturada con CO. Luego se la sube sobre la punta de la aguja Hamilton con el adaptador doble hembra acoplado y la muestra de 40 microlitros es depositada cerca de la base de la jeringa 2ml. Después de extraer y sacar el adaptador doble hembra, el extremo de la jeringa se cubre con un dedo y se sacude durante 15 segundos. Luego se inyecta lentamente la solución en el electrodo Po_2 , dejando la jeringa co-

locada en el electrodo. Cada dos minutos se añaden pequeñas alicuotas, hasta que se repitan las lecturas.

Se lava al jeringa Hamilton con detergente neutral (Triton X) y con agua destilada, utilizando la succión con tapón de absorción retirado y secado entre muestras.

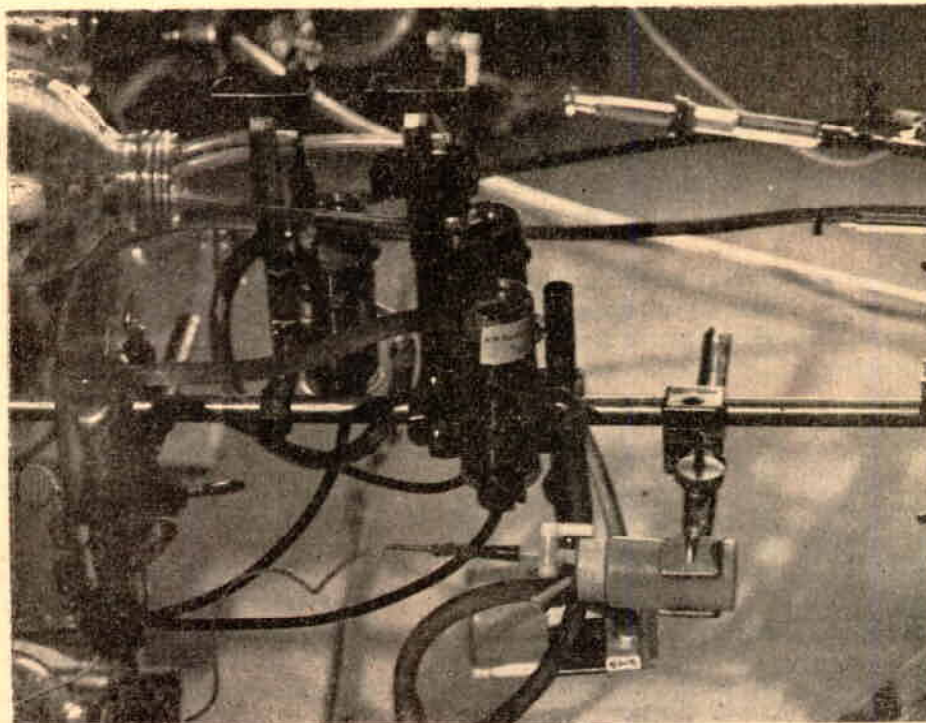
- 2) Se colocan las botellas en un anaquel con la punta para llenar de la jeringa 2 ml debajo de las botellas, para lograr una presión positiva en la jeringa, evitando bur-



(Fig. 3)

bujas y retorno de flujo de aire en la botella.

- 3) La cerradura de agua en la punta de la botella N° 1 presenta una nueva difusión de O_2 en cuanto se detiene el flujo de N_2 .
- 4) El espacio de aire, relativamente amplio en la botella N° 3 es necesario para prevenir que la espuma de H_2SO_4 sea llevada a la botella N° 2.
- 5) Puede fabricarse para la botella N° 1 un difusor de gas conveniente con tubos de polietileno, aislando la punta empujándola en un tubo cónico centrífugo calentado, y agujereando 30 huecos con la más pequeña aguja o alambre disponibles.
- 6) La mayor parte del tiempo de análisis se va esperando el equilibrio de la temperatura y el P_{O_2} en el electrodo P_{O_2} . Esto requiere un enjuague suficiente como para obtener un completo equilibrio de las paredes y la membrana con la muestra. Si el impulso del electrodo es desdeñable, generalmente será mejor introducir la muestra duplicada directamente a continuación de la primera muestra, evitando así burbujas.
- 7) Se revisará el P_{O_2} del agua saturada con CO diariamente, después de calibrar el electrodo con N_2 . Su lectura deberá restarse a la lectura de cada muestra. De todas maneras, si se llena con cuidado la botella N° 2, este espacio será de cero.
- 8) Cuando se determina R por titración clorídrica, se descartan las primeras gotas de disolvente de la punta de la jeringa 2 ml., las cuales pueden no haberse mezclado convenientemente. Los métodos alternativos para determinar R, incluyen titración de un ácido o base, pasando alicuotas múltiples enviadas por las jeringas (pero es difícil estimar correctamente para soluciones que no se han llegado a mezclar en la punta de la jeringa 2 ml. o disolución de un colorante, seguida por una lectura en un espectrofotómetro muy preciso.
- 9) El factor gas/agua, F., puede aumentar con el tiempo, debido a un ensanchamiento del área del cátodo electrodo P_{O_2} por plata



(Fig. 3b)

- depositada eléctricamente. Si esto sucede, se remoja la punta de vidrio platinada en una solución de HNO_3 durante 15 minutos.
- 10) La causa de errores más corriente, es la sedimentación de células rojas en la muestra. Hay que recordar especialmente el sacudir bien antes de tomar las muestras de la misma jeringa para otros propósitos. (Por ej. Pco_2 , Po_2).
 - 11) El agua saturada con CO deberá ser destilada y las botellas y conductos estarán perfectamente limpios para evitar materia oxidable que se combinaría con el oxígeno libre. Los recipientes del electrodo Po_2 deberán ser esterilizados con una solución quirúrgica de esterilización fría cuando están fuera de uso para prevenir el crecimiento de hongos y bacterias.